Action destructrice des Ondes Courtes sur les Antigènes de quelques Venins, sur la Bile et la Cholestérine

par Mme M. Phisalix et M. F. Pasteur.

L'ordre dans lequel agissent les divers agents modificateurs sur les deux grandes catégories de substances actives des venins : substances exclusivement toxiques, d'une part, et substances exclusivement vaccinantes d'autre part, est de la plus grande importance pour le parti qu'on peut tirer de ces agents dans la thérapeutique antivenimeuse.

Nous avons précédemment montré que les rayons Ultra-violets et les Ondes courtes, contrairement à l'action de la chaleur, détruisent tout d'abord, en l'espace d'une demi-heure, les antigènes du venin de Vipère, lequel apparaît à ce moment plus toxique car sa neurotoxine n'est plus partiellement neutralisée par l'antigène. et n'est pas encore atteinte (1, 2, 3).

Les rayons Ultra-violets, comme les Ondes courtes, ne peuvent donc transformer le venin de Vipère en vaccin. Comme strictement toxique, le venin irradié par eux est encore susceptible de protéger les organismes sensibles, mais seulement par le mécanisme de l'Accoutumance avec tous ses risques, sa lenteur, et non par inoffensive et rapide vaccination.

Pensant avec quelques raisons que ces premiers résultats sont susceptibles de varier avec la nature chimique des composants actifs des venins, nous avons étendu nos essais, à des venins de natures diverses, protéiques, alcaloïdiques, résinoïdes..., les uns vaccinants, les autres non vaccinants, ainsi qu'à la bile et à la cholestérine, dont C. Phisalix a le premier montré le pouvoir protecteur contre le venin de Vipère (4).

Technique. — Les flacons de verre, renfermant la solution venimeuse en eau salée physiologique, sont suspendus, isolés par un fil de lin, entre les électrodes en forme de calotte sphérique de 20 cm. de diamètre, émettrices d'ondes courtes entretenues, produites par un appareil à lampe. Longueur d'ondes 20 mètres.

Le flux, pris au niveau le plus proche de chaque électrode, correspond à 3 ampères et à une puissance de 300 watts. Ces mesures, contrôlées, ont été effectuées à l'aide d'un fluxmètre spécial, créé

à cet effet. Au centre de l'espace compris entre les électrodes, distantes de 15 cm., point neutre déwatté, au sens étymologique du mot, l'intensité, ainsi que l'effet thermique sont nuls : à aucun moment, la température de la solution venimeuse n'a varié, elle est restée celle du milieu extérieur 23°.

En conséquence, les modifications subies par les solutions exposées résultent uniquement d'une action électrique dûe à des Ondes courtes, dont le domaine des fréquences correspond à 15 millions de périodes.

I. Action sur le venin de cobra. *(Naja tripudians* Merrem*)*.

Le venin desséché employé est mis en solution à 1 pour 50.000 dans l'eau salée physiologique, à la dose de 1 cm^3 (correspondant à 0 mg. 0125 de venin sec), cette solution tue la souris adulte, d'un poids pouvant varier de 20 à 30 grammes, par inoculation souscutanée en l'espace de 7 heures 30 minutes ; aux doses moindres, elle la vaccine.

La solution venimeuse a été répartie en 3 petits flacons exposés en même temps entre les électrodes, et respectivement retirés au bout de 30, 45 et 60 minutes ; le contenu de chaque flacon est inoculé à 3 souris à la dose de 1 cm^3.

1° *Venin irradié pendant* 30 *minutes.* — Des 3 souris, pesant respectivement 20, 24 et 25 grammes, seul le sujet pesant 24 gr. meurt en l'espace de 5 heures 15 minutes, avec une avance de 2 heures 15 minutes sur le témoin : la toxicité du venin paraît pour le sujet ainsi accrue. Les deux autres sujets ont présenté les symptômes très sévères de l'envenimation ; troubles asphyxiques dominants, affaiblissement musculaire, paralysie, et ont survécu.

2° *Venin irradié pendant* 45 *minutes.* — Les 3 sujets (poids : 20, 25, 28 gr.) ont éprouvé les symptômes usuels de l'envenimation, et ont survécu.

3° *Venin irradié pendant* 60 *minutes.* — Les 3 souris (poids 20, 25, 28 gr.) ont éprouvé les symptômes *atténués* en durée et en intensité, et ont survécu.

Ainsi 8 sujets sur 9, ayant reçu la même dose de venin ont survécu ; la toxicité apparente des solutions, d'abord accrue, a ensuite diminué, en passant par la normale, sans toutefois disparaître complètement dans le temps limité de l'expérience. Voyons pourquoi.

Les souris se montrent-elles vaccinées comme si elles avaient reçu une dose non mortelle de venin entier ? pas du tout : éprouvées en effets 3 jours après, ainsi que deux autres témoins, elles sont

mortes dans des temps variant de 3 heures à 3 heures 30 minutes.

D'où il résulte que les antigènes ont déjà été détruits après 30 minutes d'exposition le venin paraissant à ce moment plus toxique (c'est-à-dire avec sa toxicité vraie) ; puis la neurotonie est à son tour atteinte, à partir de 45 minutes d'exposition, sans être complètement détruite au bout de 60 minutes.

L'hémorragine, moins abondante dans le venin de Cobra que dans celui de Vipère, n'est pas modifiée.

Ces résultats sont identiques à ceux que nous avons obtenus avec le venin et le sérum de Vipère, ainsi qu'avec le Virus rabique (1, 2, 3).

II. — Action sur le venin cutané muqueux du Triton alpestre (*Molge alpestris*, Laur.).

Par certaines de ses propriétés physiologiques, en particulier son mode d'action, son pouvoir vaccinant contre sa propre action, contre celles du venin de Vipère et du Virus rabique, la sécrétion cutanée muqueuse des Batraciens est la plus importante de leurs deux venins cutanés ; nous n'en citerons qu'un exemple, choisi parmi beaucoup d'autres.

Le venin (desséché) du Triton, en solution à 1 pour 500 dans l'eau salée physiologique, tue la souris adulte à la dose de 3 mg. par inoculation sous-cutanée, en l'espace de 55 heures.

Aux doses moindres de 1 mg. 50 ou de 2 millig., il détermine les symptômes paralysants d'envenimation ; mais l'animal résiste, et se montre vacciné vis-à-vis de la dose mortelle (Omg. 10) de venin de Vipère.

Après irradiation pendant 45 minûtes, la dose non mortelle de venin détermine chez la souris les symptômes paralytiques et asphyxiques, mais plus marqués qu'avec le venin frais ; le sujet résiste, mais n'est pas vacciné ; éprouvé en effet 4 jours après l'inoculation, soit par la dose mortelle de venin de Triton, soit par la dose mortelle de venin de Vipère, il meurt 3 heures et demie plus tôt que le témoin.

Ainsi le venin cutané muqueux de Triton se comporte comme le venin des Serpents sous l'action des Ondes courtes, en perdant d'abord ses antigènes, dont la disparition révèle la toxicité réelle du venin. Pour détruire complètement les autres composants il faudrait prolonger l'irradiation, mais là n'est pas la question.

III. — Action sur le Venin d'Abeilles *(Apis mellifica)*.

Nous avons montré que ce venin possède un pouvoir vaccinant non seulement contre sa propre action, mais aussi contre celle du venin de Vipère (5).

Dans nos essais nous avons employé d'une part le venin frais, d'autre part le venin désalbuminé des laboratoires Porsin, qui permet un dosage plus précis de la dose mortelle pour la souris.

1° *Venin frais ;* il est obtenu en plongeant directement, au fur et à mesure de leur extraction, les aiguillons d'Abeilles dans l'eau salée physiologique. Dans ce liquide, les vésicules venimeuses contractiles continuent à expulser leur réserve de venin. De plus la macération, pendant une nuit, de ces aiguillons dissout le venin encore adhérent aux diverses régions de l'appareil venimeux.

Par filtration sur papier, il passe le liquide venimeux, qu'on amène à correspondre à 20 aiguillons par centimètre cube de filtrat.

A la fin du mois de mai, où nous avons réalisé ces expériences, 0 cc. 50 du liquide obtenu (correspondant à 10 aiguillons), tuait la souris de 15-17 gr. en 3 h. 15 minutes.

Aux doses inférieures à 0 cc. 25, l'animal survit, après avoir présenté les symptômes de stupeur, d'hypothermie et les convulsions classiques caractéristiques ; il est vacciné contre 0 mg. 10 de venin de vipère.

Avec le venin irradié 30 à 60 minutes, tous nos sujets, au nombre de 6, meurent en 5-12 heures. Les modifications susceptibles de se produire échappent ainsi à l'observation, ce qui aurait nécessité un plus grand nombre d'essais, si les résultats obtenus avec le venin désalbuminé ne venaient compléter ces données.

2° *Venin désalbuminé.* — La dose de 1 cmc. 25 de cette préparation, inoculée sous la peau, tua la souris de 15 gr. en 4-5 heures. Aux doses non mortelles, les sujets, après avoir présenté les symptomes normaux d'envenimation, sont vaccinés contre 0 mg. 10 de venin de vipère.

Après 60 m. d'irradiation, les doses de 0 cmc. 25, 0 cmc. 30 et 0 cmc. 50 ont perdu leur pouvoir vaccinant ; les sujets qui les ont reçues, éprouvés 3 jours après avec 0 mg. 10 de venin de Vipère meurent en l'espace d'une heure, avec une avance de 3 h. 30 m. sur les témoins.

Les antigènes du venin d'Abeilles ont donc été détruits, en 30 m. avec le venin frais, sans que, après 60 m. d'exposition la neurotoxine soit sensiblement altérée.

On sait par ailleurs que la neurotoxine du venin d'Abeilles est plus résistante aux divers agents modificateurs que celles des venins des Serpents ; mais les résultats sont néanmoins comparables à ceux

qu'on obtient avec ces derniers, puisque ce sont toujours les antigènes qui disparaissent les premiers, avant la neurotoxine, fait le plus important à connaître au point de vue des applications thérapeutiques des venins.

IV. Venin des glandes cutanées dorsales des Batraciens.

Action sur la Salamandrine. — La Salamandrine, alcaloïde retiré du venin cutané granuleux des glandes dorsales et des parotoïdes de la Salamandre terrestre, possède entre autres actions, un pouvoir convulsivant énergique, comparable à celui de la strychnine.

Son chlorhydrate, mis en solution à 1 pour 1.000 dans l'eau salée physiologique, tue la souris adulte d'un poids de 20 gr., en l'espace de 16 minutes, à la dose de 1 cc. (soit 0 millig. 10), inoculée sous la peau.

Aux doses moindres de 0 mg. 05 à 0 mg. 07, l'animal survit après avoir présenté les symptômes suivants : dans les 30 premières minutes, rien d'apparent : le sujet circule comme à l'ordinaire, s'arrête, repart ; mais, au delà de ce temps, survient une certaine raideur débutant par l'arrière-train ; une excitation brusque, quoique légère, détermine à chaque fois un tremblement de tout le corps, Au bout de 45 m. seulement, éclate une crise convulsive violente, alternativement tonique et clonique, suivie de rémission, et se reproduisant plusieurs fois avec la même alternative, en diminuant chaque fois d'intensité.

Quand la dose est mortelle, une convulsion tonique termine la scène, le sujet restant rigide pendant quelques minutes, puis retombant dans une souplesse voisine de la flaccité.

Salamandrine irradiée pendant 60 minutes. — La solution de Salamandrine irradiée pendant 60 m. détermine, à la dose de mg. 10, chez la souris adulte, une crise convulsive violente, qui se termine par la mort 15 m. après l'inoculation.

Les doses inférieures, de 0 mg. 05 et 0 mg. 07 reproduisent pendant quelques heures les symptômes déterminés par la solution non irradiée.

L'exposition aux ondes courtes pendant 60 m. n'a ainsi eu aucun effet sur la toxicité globale de la Salamandrine ; la durée de l'envenimation à partir de la phase convulsive est exactement la même : 15 minutes ; elle se maintient ainsi à chaque nouvelle inoculation de la même dose, répétée à quelques jours d'intervalle.

Ces résultats négatifs étaient d'ailleurs à prévoir, par ceux également négatifs des autres agents modificateurs, entre autres celle de la chaleur, et, d'après C. Phisalix, celles du Radium et des Courants à haute fréquence (6-8).

V. Action sur le venin cutané dorsal du crapaud (*Bufo bufo* Laur.).

D'après les recherches de MM. C. Phisalix et G. Bertrand, ce venin doit son action toxique à deux substances distinctes, qu'ils ont isolées, la bufotaline et la bufoténine.

La première a une action convulsivante comme la Salamandrine, mais avec électivité particulière sur le cœur, qu'il tétanise et arrête en systole (c'est une digitaline animale) ; elle a de plus une action paralysante tardive sur les nerfs moteurs. La seconde a une action paralysante exclusive sur le système nerveux.

1° *Butofaline.* — A la dose de 0 mg. 50 en solution dans l'eau physiologique, cette substance détermine au complet tous les symptômes de l'envenimation ; elle permet la survie, mais la souris qui l'a reçue n'est pas vaccinée contre la dose mortelle supérieure à 0 mg. 50.

. Après irradiation pendant 45 m., la solution produit les mêmes symptômes et dans le même temps que la solution fraîche : les ondes courtes n'ont rien produit d'apparent sur cette substance de nature résinoïde.

2° *Bufoténine.* — Inoculée à la souris à la même dose 0 mg. 50 que la butofaline, la bufoténine, en solution dans l'eau salée physio logique, détermine les symptômes paralytiques que nous avons indiqués ; elle ne contient non plus, pas d'antigène, car après quelques jours, la même dose reproduit les mêmes symptômes et d'égale durée.

Il en est encore de même lorsque la solution a été irradiée pendant 45 minutes. Ainsi les substances actives du venin des glandes dorsales du Crapaud et de la Salamandre ne sont pas modifiées par les Ondes courtes, dans le même temps où leur venin muqueux perd son action vaccinante.

VI. Action sur la bile et la cholesterine.

C. Phisalix a le premier montré le rôle protecteur de la bile, des sels biliaires et de la cholestérine dans l'envenimation par le venin de Vipère : 5 mg. de bile de vipère, 6 mg. 5 de cholestérine en solution, la première dans l'eau salée physiologique, la seconde dans l'huile d'olives, suffisent à vacciner la souris (4). Les deux solutions sont *irradiées en même temps pendant* 46 m. et sont respectivement inoculées à des souris aux doses indiquées ci-dessus.

Or, les sujets, au nombre de 6, éprouvés 4 jours après succombent

en l'espace de 2 heures à la dose mortelle de 0 mg. 10 de venin de Vipère. c'est-à-dire avee une avance de 3 à 4 heures sur les témoins ; bile ct cholestérine ont done perdu leur pouvoir protecteur, fait d'autant plus intéressant que ee pouvoir résiste à l'ébullition pendant 20 minutes.

Conclusions

L'examen, dès le début, et à intervalles rapprochés, des venins et antivenins soumis à l'action des Ondes courtes permet de saisir l'ordre de disparition des composants actifs, et d'en tirer les conclusions suivantes relatives à l'opportunité de leur emploi dans l'envenimation :

1° Les venins non vaccinants, de nature alcaloïdique, résinoïde ou autres (Salamandrine, Bufotaline, Bufoténine...), ne subissent aueune modification de leur toxicité globale.

2° Les venins vaccinants (de Vipère, de Cobra, d'Abeille, le venin cutané muqueux des Batraciens), la bile, la cholestérine, perdent définitivement, dès la première demi-heure d'exposition, leurs composants vaccinants (ou antigènes), ce qui fait apparaître les venins momentanément plus toxiques.

2° La neurotoxine, causc de la mort, est ensuite graduellement détruite, en des temps qui varient avec le venin eonsidéré. Avant sa destruction complète, la solution venimeuse rentre dans la catégorie des venins non vaccinants, c'est-à-dire qu'elle se prête eneore à protéger les espèces sensibles, mais *par accoutumance*, avec les risques d'insuccès que fait courir le procédé.

4° Dans les limites des temps qui ont été employées, l'hémorragine n'est pas modifiée.

5° Cette action des Ondes courtes est ainsi la même que celles des rayons Ultra-violets, mais s'excrce plus rapidement car ces ondes sont très pénétrantes.

Elle est donc à éviter dans la thérapeutique antivenimeuse, et doit rendre particulièrement prudent dans le cas où la fonetion biliaire, normalement antivenimeuse, est déficiente.

BIBLIOGRAPHIE

1. Mme Marie Phisalix et Félix Pasteur. — Action des rayons Ultra-violets sur le venin de la Vipère aspic. *C. R. Ac. Sc.*, 1928, t. 186, p. 538.

2 — Action des rayons Ultra-violets sur le virus rabique et ses antigènes rabique et venimeux. *C. R. Ac. Sc.*, 1929, t. 188, p. 276.

3 — Action des Ondes courtes sur le venin de la Vipère aspic. *C. R. Ac. Sc.*, 1934, t. 199, p. 235.

4 Césaire Phisalix. — La cholestérine et les sels biliaires, vaccins chimiques du venin de Vipère. *C. R. As. Sc.*, 1897, t. 125, p. 1003.

5 Marie Phisalix. — Action vaccinante réciproque des venins d'Abeilles et de Vipère aspic. *C. R. Ac. Sc.*, mai 1932, p. 2086 ; *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat.*, 2e s., t. IV, pp. 388-392.

6 Césaire Phisalix. — Atténuation du venin de Vipère par les Courants à haute fréquence. *C. R. Soc. Biol.*, 1896, t. XLIII, p. 233.

7 — Influence des Radiations du radium sur la toxicité du venin de Vipère. *C. R. Ac. Sc.*, 1904, t. 138, p. 526.

8 — Influence de l'Emanation du radium sur la toxicité des venins. *C. R. Ac. Sc.*, 1905, t. 140, p. 1600.